

氏名	戒 田 真由美
学 位 の 種 類	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 3849 号
学位授与年月日	平成12年 3 月31日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	Time at confluency for human RPE cells affects the adherens junction and in vitro wound closure (培養ヒト網膜色素上皮細胞においてコンフルエント後の期間が接着結合と創傷治癒に及ぼす影響)
論文審査委員	主 査 教 授 三木 徳彦      副主査 教 授 北川 誠一 副主査 教 授 原 充弘

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】培養ヒト網膜色素上皮細胞（RPE）において、コンフルエント後の期間が接着結合の安定性に与える影響について検討した。

【方法】コンフルエント後の期間が異なる培養ヒトRPEで、接着結合タンパクであるカドヘリン、カテニンと細胞骨格のひとつであるアクチンについて、幅 1 mmの線状の欠損を生じさせた部位の治癒経過を免疫組織学的に検討した。また、培養液中にカドヘリン抗体を添加したとき、あるいは低カルシウム状態における接着結合の変化についても検討を行った。

【結果】コンフルエント直後の細胞では、欠損部を覆う細胞と隣接する細胞との間に間隙が観察され、非欠損部の細胞と同様にアクチンはストレスファイバーを形成し、カドヘリン、カテニンは細胞境界に沿って点状に分布していた。一方、コンフルエント後長期間経過した細胞では、欠損部の細胞も非欠損部の細胞と同様に、互に密に接し、環状アクチン線維束を形成していた。カドヘリン、カテニンについては、非欠損部の細胞は細胞境界に連続して全周性に分布していたが、欠損部では細胞が拡大するに伴い、カドヘリン、カテニンがやや不連続に分布しているのが観察された。また、細胞培養液中にカドヘリン抗体を添加したとき、コンフルエントになってから長期間経過した細胞では、接着結合部位に抗体が結合しているのが観察されたが、接着結合そのものが解離することにはなかった。さらにカルシウムキレート剤添加に対しては、接着結合部位にカドヘリンの分布が認められなくなるまでには、コンフルエント直後の細胞に比してより長期間経過した細胞では、長い作用時間を要した。その後、通常のカルシウム濃度に戻すと、短時間で細胞全周にほぼ完全に線状に分布するカドヘリンが観察された。

【結論】コンフルエントの後長期間経過した細胞は、創傷治癒過程や低カルシウム状態において、コンフルエント直後の細胞に比較してより安定した接着結合を持つことが示され、*in situ* の細胞により近いと考えられる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

*In situ*により近い状態の培養ヒト網膜色素上皮細胞（RPE）について検討するために、コンフルエント後の期間が接着結合の安定性に与える影響について検討した。

実験方法として、コンフルエント後の期間が異なる培養ヒトRPEにおいて、幅 1 mmの線状の欠損を生じさせ、治癒経過を接着結合タンパクであるカドヘリン、カテニンと細胞骨格のひとつであるアクチンに

ついて免疫組織学的に検討した。また、培養液中へのカドヘリン抗体添加時と低カルシウム状態においても接着結合の変化について検討した。

コンフルエント直後の細胞では、欠損部を覆う細胞と隣接する細胞との間に間隙が観察され、非欠損部の細胞と同様にアクチンはストレスファイバーを形成し、カドヘリン、カテニンが細胞境界に沿って点状に分布していた。一方、コンフルエント後、長期間経過した細胞では、欠損部の細胞も非欠損部の細胞と同様に、お互いに密に接し、環状アクチン繊維束を形成していた。カドヘリン、カテニンについては、非欠損部の細胞は細胞境界の全周に連続して分布していたが、欠損部では細胞が拡大するに伴い、カドヘリン、カテニンがやや不連続に分布していた。また、細胞培養液中にカドヘリン抗体を添加したとき、コンフルエントになってから長期間経過した細胞では、接着結合部位に抗体が結合しているのが観察されたが、接着結合そのものが解離することはなかった。さらに、カルシウムキレート添加に対しては、コンフルエント直後の細胞に比してより長期間経過した細胞では、接着結合部位にカドヘリンの分布が認められなくなるまでに、より長い作用時間を要した。その後、通常のカルシウム濃度に戻すと、短時間で、細胞全周ほぼ完全に線状に分布するカドヘリンが観察された。

コンフルエントの後、長期間経過した細胞は、創傷治癒経過や低カルシウム状態において、コンフルエント直後の細胞に比較してより安定した接着結合を持つことが示され、*in situ* の細胞により近いと考えられる。

以上の研究は、培養ヒトRPEは、コンフルエント後、長期間経過すると、*in situ*の細胞により近くなる知見が得られた。よって本研究者は、博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断された。